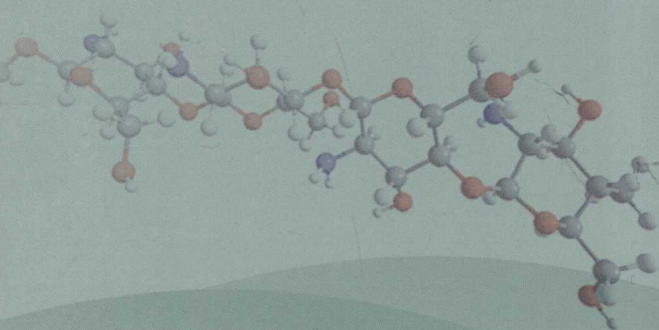


Research and
Application of Carbohydrate-
based Plant Disease Vaccines

糖链植物疫苗 [研究与应 用]

主编 / 杜昱光 副主编 / 赵小明 尹恒 王文霞



科学出版社

糖链植物疫苗研究与应用

杜昱光 主编
赵小明 尹 恒 王文霞 副主编

科学出版社

北 京

内 容 简 介

随着绿色农业发展以及食品、生态安全需要,绿色生物农药的研发受到了越来越多的重视,壳寡糖等糖类物质已被应用于农业生产中,这类物质在植物体中的功效与动物疫苗在动物体中的功效十分类似,因此这类可激活植物免疫系统的糖类物质被定义为糖链植物疫苗。本书是首部关于糖链植物疫苗的专著。本书较系统地介绍了糖链植物疫苗的来源、结构、制备方法及应用对象;从信号识别、信号转导途径等方面详细阐述糖链植物疫苗作用机理;介绍糖链植物疫苗实际应用情况并展望其未来发展趋势。

本书可供植物保护学、植物免疫学、糖生物学与农药学等相关专业的本科生、研究生和教学科研人员阅读学习,也可供相关的科技和应用机构的科研、应用和管理人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

糖链植物疫苗研究与应用/杜昱光主编. —北京:科学出版社, 2012

ISBN 978-7-03-034761-9

I. ①糖… II. ①杜… III. ①聚糖—植物—疫苗—研究 IV. ①S432.2

中国版本图书馆CIP数据核字(2012)第123273号

责任编辑:李悦 岳漫宇/责任校对:彭立军

责任印制:钱玉芬/封面设计:美光制版

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

陈海印刷有限责任公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2012年6月第 一 版 开本:B5(720×1000)

2012年6月第一次印刷 印张:14 1/4 插页:2

字数:288 000

定价:75.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

编委会成员

主 编：杜昱光

副主编：赵小明 尹 恒 王文霞

编写者（以汉语拼音排序）：

傅赟彬 刘启顺 卢 航 孟庆山

王梦雨 张付云 张洪艳

序一

我国农业正经历由传统农业向现代化农业的快速转型。现代化农业在促进我国农业生产水平大幅度提高的同时，也伴随引起了一系列问题，尤其是近年来日渐严重的植物病虫害问题，这其中有自然因素，如频繁出现的灾害性气候条件加剧了病虫害的猖獗危害；但更多的是人为因素，如不合理的种植制度和生产管理加重了病虫害的发生。尤其是现代化农业对于化学农肥的过度依赖，产生了环境污染、农药残留、作物耐药性等形形色色的问题，也伴随出现了严重影响国计民生的食品安全等问题。这些问题，都对我们植保工作者提出了严峻的挑战：如何在破坏自然环境的情况下，保障农作物的高效可持续生产。

良性的植保工作应以可持续控制为目标。自 1975 年以来“预防为主，综合防治”被定为我国的植物保护工作方针，这是植保工作者不懈努力的工作追求。但长期以来根深蒂固的观念使得在生产实践中，使用化学农药来治疗植物病虫害仍是植保工作的主流。我们植保工作者在不否认化学农药巨大贡献、继续开发绿色环保化学农药的同时，也应努力寻找高效的病害预防药剂，而植物免疫学的提出与发展为我们开发这类药剂提供了理论依据。

植物免疫诱导抗性的研究与植物免疫概念的提出已有近百年的历史。长期和大量的实验证明，植物中也存在着与动物类似的免疫系统，植物免疫系统的存在使得通过调节此系统防治病害成为现实。寡糖等一批对植物具有免疫激活功能的物质已经被应用于实际农业生产中防治病害，并取得了良好的效果。在对这些物质的研究过程中，研究者们发现，这类物质在植物体中的功效与常规动物疫苗在动物体中的功效十分类似。基于此，2008 年，我国邱德文、杜昱光等研究者提出了“植物免疫与植物疫苗”的概念，将这类具有植物免疫系统激活能力的物质定义为植物疫苗，极大地推动了我国植物免疫学科的发展。在这些植物疫苗类物质中，糖类物质（包括多糖、寡糖等）是研究最为深入，应用最为广泛的分支之一。

本书编著团队杜昱光课题组从 20 世纪 90 年代以来，一直致力于糖类研究，在糖质资源利用、糖构效关系、寡糖制备分离尤其是寡糖在农作物上的作用机制和应用技术上做了大量的研究开发工作。2010 年，该团队在国际上率先提出了“糖链植物疫苗”的概念，得到了植保学界一定的关注。为了更进一步的推动糖链植物疫苗的研究，他们编写了本书，相信对我国植物免疫与植物糖生物学的发展都会形成一定的推动作用。

本书是国内外首部关于糖链植物疫苗的专著。书中首先较系统地介绍了植物免疫系统与糖链植物疫苗；在第二部分通过针对不同品种糖链疫苗展开论述的方式，逐一介绍几丁聚糖及其寡糖、壳聚糖及其寡糖、葡聚糖及其寡糖、寡聚半乳

糖醛酸、糖肽、其他糖链植物疫苗与人工合成与修饰的糖链植物疫苗的发现、来源、制备及应用情况等；在第三部分中，针对糖链植物疫苗作用机理，从信号识别、初期信号响应、信号传导途径、响应基因及蛋白质、次生代谢调控等方面进行详细介绍；最后，依据编写者田间使用糖链植物疫苗的经验，介绍其实际应用情况并展望其未来发展趋势。

植物疫苗是植物保护领域较新颖的概念。糖链植物疫苗是最重要的植物疫苗之一，其相关产品目前已经在植物保护与农业生产领域崭露头角，但其作用机制还未完全研究透彻。因此，本书的编著恰逢其时，既是对前期工作的系统总结，也为后续工作提供思路。我相信本书对于广大植保工作者，植物免疫、植物病理、植物糖生物学研究者均有较好的指导意义；也希望通过此书的出版能促进我国植物疫苗尤其是糖链植物疫苗研究领域的交流与协作，从而更快地推进此领域的研究工作，既为植物免疫学与植物糖生物学的发展推波助澜，更为我国农业的绿色、环保、可持续发展添砖加瓦。

中国农业科学院植物保护研究所 研究员
中国工程院院士

邵予元

序二

糖与蛋白质、脂类和核酸一样，是组成细胞的重要成分，在细胞的构建、生物合成和生命活动的调控中，均扮演着重要的角色。虽然长时间以来，传统的生物化学观点认为糖类仅是提供、储存能量的分子，或是作为生物体的结构和支撑物质。但近年来，针对糖的研究在国际上引起了日益广泛的重视，特别是自然界中存在大量的糖质资源，对这些糖类资源的开发、应用，以及功能研究已逐渐成为生物学研究领域中的新热点之一。

国内外研究者发现壳寡糖等糖类物质对植物具有抗病抗逆作用，后续的系列研究证明这些糖是通过调节植物自身免疫力实现功能的。这个特点使得这些糖类物质有别于传统的化学农药，可在绿色农业生产中应用，为解决农药残留、环境污染，保障我国粮食安全做出一定的贡献，进而提高我国人民群众的生活质量。

令人欣慰的是，我国在此方面的研究工作基本与国际同步，中国科学院大连化学物理研究所天然产物与糖工程课题组的科研团队，经过长期在此领域的勤奋工作，围绕具有植物免疫调节功能的糖类物质，系统地进行了酶法制备、分离分析、功能鉴定、机理研究、应用推广等方面的研究，取得了一定的科学和应用成果。在 2010 年，他们敢于创新，在国际上率先提出了“糖链植物疫苗”的概念。

为了介绍关于糖链植物疫苗的研究与应用，中国科学院大连化学物理研究所杜昱光等编写了此书，书中对糖链植物疫苗的定义、制备方法、作用机理与应用范围等方面系统深入地进行了阐释，特别是以田间具体的实验结果为例，提供了直观可信的证据，使得本书更适用于从事糖类与植物保护研究的科技工作者的读者群体。相信此书的出版，对糖类应用研发会有促进作用。希望糖链植物疫苗的研究成果，在生态环境平衡、食品安全和科学发展新型农业方面发挥更大的作用。

中国科学院微生物研究所 研究员

中国科学院院士

張 树 政

前 言

糖链植物疫苗是一个较新颖的科学概念，它产生于糖生物学与植物免疫学两个年轻学科的交叉碰撞，既是科研工作者灵光一现的产物，更是这两个学科多年积累的结果。

20 世纪初，科学家们观察到对植物预先接种致病菌可以使植物产生对相关病害的防御作用，这种保护作用与当时正在兴起的动物免疫有异曲同工之妙。20 世纪 20 年代，已经有科学家们提出了植物免疫（plant immunity）的概念。从 20 世纪 40~50 年代开始，大量可以诱导植物免疫的化学、生物物质被发现，这些物质被定义为诱导子（又称激发子）。21 世纪以来，植物免疫学的发展进入一个新的高峰，植物免疫系统得到了学术界的公认。相对于植物免疫学，糖生物学的产生要更晚一些，虽然劳动人民对于糖的利用由来已久，但真正对糖类物质产生重视，将其作为一门独立学科来研究则仅从 20 世纪 70~80 年代开始。糖生物学是研究糖及糖缀合物（包括糖蛋白、糖脂和蛋白聚糖）糖链结构、生物合成和生物学功能的一门学科。

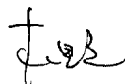
在研究糖功能的过程中，科学家们发现多种糖类物质对于植物免疫系统具有良好的调节作用。1985 年，美国碳水化合物研究中心主任 Albersheim 首次提出了寡糖素（oligosaccharin）的概念，认为某些有生物活性的寡糖能够刺激植物的免疫系统反应，具有调控植物生长、发育、繁殖、防病和抗病等方面的功能。这之后，此方面的研究工作与日俱增，科学家们在发掘新品种，以及制备方法、分离分析、结构检测、应用对象、功能效果、作用机理等方面做了大量的研究工作，找到了一系列结构明确、靶标清晰的具有植物免疫调节活力的糖类物质。更让人欣喜的是，糖链植物疫苗的研究工作已经得到了实际应用，美国、法国、德国、日本、俄罗斯、韩国、古巴等国均已基于此种糖类物质开发了相应的生物农药产品上市，并产生了较好的效果。我国目前也已开发了多种基于糖链植物疫苗的生物农用制剂，这些产品在我国构建可持续绿色农业生产体系过程中起到了一定的作用。

中国科学院大连化学物理研究所天然产物与糖工程课题组科研人员自 1996 年以来，长期从事针对这些具有植物免疫调节功能的糖类物质的研究工作，取得了一定的成果。尤其是 2010 年，通过将这些糖类物质在植物上的作用与传统疫苗在动物上的作用进行对比，我们在国际上率先提出了“糖链植物疫苗”的概念，将具有激活植物自身免疫、提高植物抗病抗逆能力的糖类物质定义为糖链植物疫苗。为了更进一步地推动糖链植物疫苗的研究，基于相关的文献报道，尤其是自身的研究经验，我们组织编写了本书。据我们所知，这是国内外第一本关于糖链

植物疫苗的专著。在本书中，我们系统地介绍了糖链植物疫苗的制备、功能、机理及实际应用，对过往研究工作进行了详尽的总结，也对此领域未来的研究热点和重点进行了展望。

课题组在多年研究及本书编写过程中一直得到了多位专家的指导和帮助，中国农业科学院植物保护研究所郭予元院士和中国科学院微生物研究所张树政院士不仅长期以来一直支持和关心我们的研究，而且还在百忙之中及耄耋之年为本书作序，在此表示诚挚的谢意。同时感谢农业部农药检定所顾宝根研究员、农业部农业技术推广服务中心杨普云研究员、陕西省农业厅吕金殿研究员、中国科学院上海生命科学研究院王克夷研究员、海南省农科院蔬菜研究所肖日新研究员、西北农林科技大学商鸿生教授及陈银潮老师等诸多专家常年以来对糖链植物疫苗研发及应用工作给予的支持与帮助。感谢大连凯飞化学股份有限公司及海南正业中农高科股份有限公司在我们科研成果转化中给予的支持。最后衷心感谢国家自然科学基金委员会、科技部、农业部、中国科学院等部委给予的相关项目课题科研经费资助。

本书的作者们都是在科研第一线从事糖链植物疫苗相关研究的科研工作者，由于时间限制和水平有限，我们在本书的写作中难免有错误与疏漏之处，希望得到读者的谅解、批评和指正。



2012年6月

目 录

序一.....	i
序二.....	iii
前言.....	v
第一章 植物免疫系统与糖链植物疫苗.....	1
第一节 植物免疫系统简介.....	1
第二节 植物疫苗简介.....	4
1. 植物诱导子.....	4
2. 植物疫苗概念的提出.....	6
3. 植物疫苗作用特点.....	8
第三节 糖链植物疫苗概念.....	10
参考文献.....	12
第二章 糖链植物疫苗应用研究进展.....	14
第一节 几丁聚糖及其寡糖植物疫苗应用进展.....	14
1. 诱导植物抗性应用进展.....	14
2. 防治虫害应用进展.....	18
3. 促进植物生长应用进展.....	18
4. 水果保鲜和改善农产品质量应用进展.....	18
第二节 壳聚糖及其寡糖植物疫苗应用进展.....	19
1. 壳寡糖诱导植物抗病作用研究进展.....	19
2. 壳聚糖及其寡糖诱导植物抗逆作用研究进展.....	24
3. 壳聚糖及其寡糖调节植物生长研究进展.....	27
4. 壳寡糖改善蔬果品质研究进展.....	27
5. 壳寡糖蔬果保鲜作用研究进展.....	28
6. 壳聚糖及其寡糖降解农药残留研究进展.....	28
第三节 葡聚糖及其寡糖植物疫苗应用进展.....	29
1. β -葡寡糖激发子的发现及应用.....	29
2. 结构对葡寡糖诱抗功能的影响.....	30
3. 葡寡糖与植物受体之间的信号识别.....	31
4. 胞内信号的传导.....	32
5. 防御基因及 PR 蛋白的调控.....	33

6. 次生代谢产物的合成	34
第四节 寡聚半乳糖醛酸植物疫苗应用进展	35
1. 寡聚半乳糖醛酸的定义和来源	35
2. 寡聚半乳糖醛酸的生物活性	37
3. 寡聚半乳糖醛酸诱导植物的作用机制	39
4. 寡聚半乳糖醛酸植物疫苗的应用进展	46
第五节 糖肽疫苗应用进展	46
1. 糖肽的基本组成	46
2. 微生物代谢提取物中的糖肽	48
3. 菌体胞壁肽的植物激发子活性	52
第六节 其他糖链植物疫苗应用进展	55
1. 微生物来源的其他糖链疫苗应用进展	55
2. 海洋来源的其他糖链植物疫苗	64
3. 植物来源的其他多糖激发子	69
第七节 人工合成与修饰的糖链植物疫苗应用进展	75
1. 聚糖修饰的糖链疫苗	76
2. 寡糖修饰的糖链疫苗	86
3. 人工合成的糖链疫苗	97
参考文献	103

第三章 糖链植物疫苗作用机理研究进展

116

第一节 糖链植物疫苗信号识别	116
1. 已知糖链疫苗受体	117
2. 尚未发现受体的糖链疫苗	127
第二节 糖链植物疫苗初期信号响应	132
1. 钙离子流变化	133
2. 一氧化氮的产生	136
3. 活性氧的产生	140
4. 胞内外 pH 变化	143
5. 蛋白激酶	145
第三节 糖链植物疫苗信号传导途径	146
1. 系统获得性抗性简介	146
2. 诱导系统抗性简介	151
3. 系统获得性抗性与诱导系统抗性之间的关系	158
第四节 糖链植物疫苗响应基因及其编码蛋白	158
1. 参与调节植物免疫的基因简介	159

2. 糖链植物疫苗响应基因及蛋白研究进展	160
第五节 糖链植物疫苗对次生代谢的调节作用及其信号转导 途径研究进展	164
1. 糖链疫苗对植物次生代谢的作用研究	165
2. 糖链疫苗对植物次生代谢调控的信号转导研究	175
3. 小结与展望	177
第六节 糖链植物疫苗作用机制小结	178
参考文献	179
第四章 糖链植物疫苗研发应用现状与展望	194
第一节 国内外研发现状	194
1. 国际研发现状	194
2. 国内研发现状	197
第二节 糖链植物疫苗在农业上的应用	198
1. 糖链植物疫苗在防治作物病害上的应用	200
2. 糖链植物疫苗激发植物抗寒性的应用	205
3. 糖链植物疫苗促进植物生长	206
4. 糖链植物疫苗提高农作物品质和降解农药残留作用	207
5. 糖链植物疫苗的应用前景	209
第三节 面临的问题与今后研究的热点	210
1. 存在的问题	210
2. 发展趋势和重点方向	211
参考文献	213

第一章 植物免疫系统与糖链植物疫苗

免疫是生物体进行抗体识别和排除抗原异物的一种保护性反应。我国著名免疫学家曹雪涛院士认为免疫防治的概念最早由我国东晋时代医学家葛洪提出，他在公元 303 年左右所著的《肘后备急方》中记载了有关医治“癩疯狗病”的方法，即应用病犬的脑髓敷伤口以防治狂犬病，距今已有 1700 余年 [1]。系统的免疫学研究则成型于中世纪的欧洲。在 19 世纪，随着医疗水平的提高，免疫学迅速发展，到 20 世纪末，免疫学已经成为在分子水平上研究生命活动机理的综合科学。免疫学在医学领域的应用，尤其是对一系列重大疾病疫苗的开发，使得人们攻克了诸多曾被视为不治之症的疾病，重大的传染性疾病如鼠疫、天花、霍乱、结核、黄热病和登革热等在全球范围内基本得到了控制和消灭。目前，针对动物、微生物，尤其是针对人类免疫系统的研究已经达到了前所未有的高度，成为生物学科中研究最多及研究手段和方法最丰富、完善的分支。但植物是否也存在与动物类似的免疫系统，人们是否可以利用植物免疫系统开发出同样防治植物病害的疫苗类产品，却一直是一个悬而未决的问题，直到最近几年才获得了部分答案。本书作者在植物免疫领域开展了较长期的工作，本章将简要介绍植物免疫系统与植物疫苗及其概念，以及本书研讨的重点——糖链植物疫苗。

第一节 植物免疫系统简介

虽然长期以来，对于植物是否具有免疫系统尚无定论，但从事植物保护领域研究的科学家们早就发现，植物在长期的演化过程中，不但逐步获得了适应不良环境的能力，而且还进化出了各种机制以抵抗病原菌的侵入。20 世纪初，人们就观察到对植物接种致病菌或一些病菌产物可以使植物产生对相关病害的防御作用。1901 年，Beauverie 发现应用加热方法获得弱毒力的灰葡萄孢菌 (*Botrytis cinerea*) 后，将此不能侵染秋海棠的灰葡萄孢菌弱菌系加到种有幼秋海棠的土壤中，能使海棠免受灰葡萄孢菌强毒系的侵染等。1909 年，Bemarl 在兰科植物鳞茎组织上接种根腐病菌 (*Rhizoctonia repens*) 弱毒株系后，发现此鳞茎可免受根腐病菌强毒株的侵染。这种保护作用与当时正在兴起的动物免疫有异曲同工之妙，因此，当时的科学家们已经对“植物免疫”有了模糊的概念，且已有人提出了植物免疫的概念，目前笔者查到的最早提出植物免疫 (plant immunity) 这个概念的文献可以追溯到 1927 年 NOBÉCOURT 的论文 *A Contribution to the Study of Immunity in Plants* (而非很多论文中认为的由 Joseph Kuc 提出)，此论文中系统总

结了作者之前在里昂大学等机构针对植物免疫进行的工作，如发现桂樱对白粉病的免疫作用是由于产生苯甲醛所造成的等。

1933年，Chester系统总结了前人对植物免疫的研究，将植物免疫定义为植物在外界因子的诱导下，能抵抗某些病害，使自己免遭病害或减轻病害的能力，从而将此领域的研究推向了新的高度。1941年，Muller创立的植物保卫素(phytoalexin，简称植保素)理论为诱导抗病性的研究奠定了基础，大大推动了诱导抗病性的研究。植物保卫素是植物受到病原物侵染后或激发子处理后植物所产生或积累的一类低相对分子质量的抗菌性次生代谢产物。

从20世纪50年代以来，Kuc、Yarwod、Ross等针对不同的“植物—免疫诱导子—病害”体系进行了大量工作，分别发现真菌、病毒、细菌均能诱导植物产生免疫力。在随后的工作中，涉及的植物和病毒、细菌、真菌的种类越来越多(表1.1)。尤其是Kuc在这方面做了大量的工作，1965年他们报道预先在黄瓜的子叶接种刺盘孢可对植物有整体保护作用[2]。他们还发现了葫芦科作物如西瓜等先经局部病原菌侵染后对后续接的真菌、细菌和病毒病害将产生整体性保护。更为重要的是，Kuc还发现注射过霜霉病菌的烟草叶片经组织培养而产生的新植株也具有系统抗性[3]。但这种抗性不能传到注射过霜霉病菌的植物所结的种子以及由这种植株经组织培养所获得植物的种子中，说明这种免疫激活作用不具有遗传性(不过近年来，随着表观遗传学的发展，已经有学者认为诱导获得的植物免疫能力可以通过表观遗传传到下一代，但此种观点仍有待确证)。

表 1.1 植物免疫大事记

年 份	大 事 记
1901	Beauverie 发现植物中的免疫现象
1927	NOBÉCOURT 提出植物免疫概念
1933	Chester 综述植物免疫
1941	Muller 提出植保素理论
1959	在田间观察到烟草获得免疫抗性
1960	认识到针对烟草青霉病的获得免疫抗性
1961	发现烟草花叶病系统的获得免疫抗性
1975	发现葫芦科系统的获得免疫抗性
1982	发现大麦系统的获得免疫抗性
1989	发现对植物对昆虫的免疫抗性
1992	开始对拟南芥获得免疫抗性的系统研究
1994	发现水杨酸在免疫抗性过程中的作用
1995	植物免疫激活产品的商品化
2006	Dangl 系统综述植物免疫系统

我国在诱导抗性方面也进行了较多的研究工作。田波院士等用化学诱变法获得了番茄花叶病毒的弱毒突变体 N-14, 将其接种番茄幼苗后, 可保护番茄免受强毒株系的侵染, 并将其在番茄生产上进行了大面积应用 [4]。吴洵耻针对棉花黄萎病等病害进行研究, 也发现了类似的结果 [5]。陈延熙等用红麻炭疽菌处理苹果, 可使其产生对苹果炭疽病菌的免疫反应 [6]。刘英慧等用菜豆、香蕉和红麻上的炭疽菌处理西瓜, 可使西瓜产生对西瓜炭疽病菌的系统免疫 [7]。李洪连等研究发现, 利用柑橘炭疽菌处理黄瓜幼苗, 可使黄瓜产生对炭疽病菌的抗病反应 [8]。

虽然很早以前科学家们就发现植物免疫的激活与一些化学物质 (最初发现的多是病原菌的分泌物) 有关, 但在早期工作中, 植物免疫通常通过预先接种少量弱毒或无毒的病原菌来激活。而随着研究的深入, 一系列物理、化学或生物的因子被发现能够激活植物免疫从而诱导植物抗性, 这些因子被定义为诱导子 (elicitor, 又称激发子)。20 世纪 70 年代至今, 植物免疫的研究往往与诱导子的研究密不可分, 其研究成果受到人们的高度重视。人们发现, 许多生物包括真菌、细菌和病毒致病菌或非致病菌, 活体、死体及其代谢产物, 甚至一些非生物因子如重金属、无机化合物、紫外线等都能诱导植物产生抗病性, 并且在几十种植物的上百种病害上都得到了证实。

21 世纪以来, 植物免疫领域的研究进入一个新的高峰期, 如最近几年本领域每年发表的 SCI 收录文章均在 1000 篇以上, 且在一些重要的期刊如 *Science*、*Nature*、*Cell*、*PNAS* 上也屡有关于植物免疫的文章发表, 相关的外文专著也有多本问世。其中最具有代表性的是 2006 年 Dangl 等在 *Nature* 上发表的综述文章 *The Plant Immune System*, 该文章系统性总结了植物免疫系统的研究进展, 指出植物有两级天然免疫系统: 第一级是对常见的细菌外来分子 (包括非病原菌) 进行识别和作出反应; 第二级则是对外来分子分泌的直接或间接作用于宿主上的病原菌毒性效应因子 (effector) 作出反应 (此反应由植物抗病基因所控制)。由于植物没有哺乳动物的移动防卫细胞和适应性免疫反应, 因此要依靠每个细胞的先天免疫力以及植物细胞从感染点到植物体内各处传递的信号来实现系统免疫。植物免疫系统可归纳为一个四阶段的拉链模式 (a four phased 'zigzag' model, 图 1.1) [9]。

这个模式中病原物与植物的互作分为四个阶段。

第一个阶段, 植物模式识别受体 (pattern recognition receptor, PRR) 识别病原物的病原相关分子模式 (pathogen-associated molecular pattern, PAMP), 激活 PAMP 的免疫反应 (PAMP-triggered immunity, PTI), 从而阻止一些病原物的定殖。

第二个阶段, 病原物分泌出一些毒性效应因子, 这些毒性因子干扰 PTI 导致植物产生效应因子激活的感病性 (effector-triggered susceptibility, ETS), 包括阻止 PAMP 被识别、阻止宿主植物防卫基因的转录等, 从而帮助病原物在宿主体内增殖。

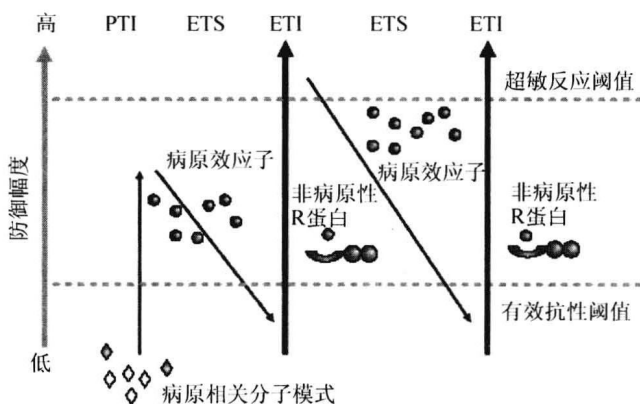


图 1.1 四阶段拉链模式的植物免疫系统 [9]

第三个阶段，为了克服病原物的效应蛋白，植物进化出另一种是由抗性基因（resistance gene）*R* 编码的、结构上含有核酸结合位点和亮氨酸重复序列（nucleotide binding site and leucine-rich repeat domain, NB-LRR）的蛋白介导的抗性，这种 *R* 蛋白能够直接或间接与病原物的效应因子相互作用，从而抑制效应因子对植物抗性的影响 [10]。植物所拥有的 *R* 蛋白家族成员直接或间接识别病原物特异拥有的毒性效应因子，产生效应因子激活的免疫反应（effector triggered immunity, ETI），进一步加速和放大免疫能力，从而使植物抗病性得以持续。

第四个阶段，在自然选择的压力下，病原物继续产生效应因子或者增加新的额外的效应因子来抑制 ETI，而植物产生新的 *R* 基因以继续激活 ETI 维持自己的生存。

在这个模式中我们可以看到植物的先天性免疫系统可以将许多潜在的病原物拒之门外，而 *R* 基因在植物抗病中也起着重要的作用。了解植物的免疫系统，对于绿色农业和病虫害控制具有重要意义。根据植物免疫系统可以提出两种可能的生物防病战略：其一，从基因改造入手，提高农作物实现免疫的能力；其二，开发出能够激活植物免疫功能的类似化合物，帮助植物预防病虫害。无论采用哪种方法，都是在利用和提高植物自身的天然防御能力，因而可以避免污染环境，同时又使病原体微生物无法产生“抗药性”。基于本书对象——糖链植物疫苗的作用特点，下文将主要介绍植物疫苗及其引起的植物免疫第一阶段，全面的植物免疫系统可参阅下列综述 [11-17]。

第二节 植物疫苗简介

1. 植物诱导子

如前文所述，能激活植物免疫，使植物产生诱导抗病性的特殊化学和生物物

质最初称为植物诱导子, 又名激发子 [18], 这些物质在极低浓度下 (10^{-9} mol/L, 甚至更低) 即可被植物识别为信号物质, 激发植物自身的免疫系统, 最终使植物获得抵御病害和逆境的能力。诱导子的研究与植物免疫的研究密不可分, 随着人们对植物免疫认识的加深, 被发现的诱导子也越来越多, 目前已发现有数百种诱导子能够激活植物免疫产生抗性。

诱导子依据来源可分为物理因子、化学因子、生物因子三类。物理因子包括机械损伤、紫外线照射、电磁处理、X-射线处理、金属离子处理、高温及低温处理等。如 1987 年 Kuc 实验室发现机械或干冰损伤、电磁处理, 可不同程度地诱导烟草对霜霉病 (霜霉真菌, *Peronospora tabacina*) 的抗性 [19]。

化学诱导子包括天然产生与人工合成的化学物质, 天然产生的化学物质如水杨酸 (salicylic acid, SA) 及其类似物 2,6-二氯异烟酸 (2,6-dichloroisonicotianic acid, INA)、茉莉酸 (jasmonic acid, JA) 及其衍生物茉莉酸甲酯 (methyl-jasmonate, MeJA)、 β -氨基丁酸 (DL- β -aminobutyric acid, BABA)、乙烯等; 一些人工合成的化合物如苯并噻二唑类 [Benzo (1,2,3) thiadiazole-7-carbothioic acid S-methylester, BTH]、烯丙异噻唑 (噻菌灵, probenazole, PBZ) 等, 其中有一些已经实现商品化。化学诱导子中的水杨酸、茉莉酸、乙烯同时也是重要的植物激素。

来源于病原菌、其他微生物和寄主植物或由寄主—病原物相互作用后产生的可激发植物防卫反应的物质均为生物源激发子。生物源激发子具有抗菌谱广、对环境安全、不易产生抗性、作用时间长、使用方便、成本低廉等优点, 是目前诱导子研究的热点。生物源诱导子主要分为以下两类。

1.1 生物体诱导子

生物体诱导子主要包括真菌、细菌和病毒类, 可以是致病菌、弱致病菌或非致病菌。关于这类激发子的研究开展较早, 20 世纪早期植物免疫领域的大多数实验均使用无毒或弱毒的病原菌接种植物从而实现诱导抗性的作用。我国田波院士与谢联辉院士在此方面也进行了大量的工作, 取得了显著的成果。但由于微生物的存活和保存有一定的困难, 限制了这类诱导子的推广和应用和商品化。

1.2 生物性激发子

这类激发子主要来自于病原菌细胞壁、微生物代谢产物以及植物细胞壁等, 它与活体一样也能诱导植物产生抗病反应, 按其生物化学结构不同主要分为糖类 (包括聚糖和寡糖)、肽和蛋白、糖肽和糖蛋白及脂类。因为生物性激发子具有易